© **Г.П. Чепурная**, 2016
УДК 615.214.24.033.36.074

СОХРАНЯЕМОСТЬ ЗОПИКЛОНА В ТКАНИ ПЕЧЕНИ

Г.П. Чепурная

Майкопский государственный технологический университет;
38500, Майкоп, Первомайская ул., д. 191

E-mail: velichkogalina@yandex.ru

Приведены экспериментальные данные по изучению сохраняемости зопиклона в трупной ткани печени при хранении образцов в разных условиях. Описана методика выявления зопиклона, основанная на изолировании исследуемого вещества из ткани печени с помощью ацетона, экстракционной и хроматографической очистке, УФ-спектрофотометрическом определении. Показано, что зопиклон сохраняется в трупной печени в течение 3 мес при разных температурах и может быть выделен, идентифицирован и определен.

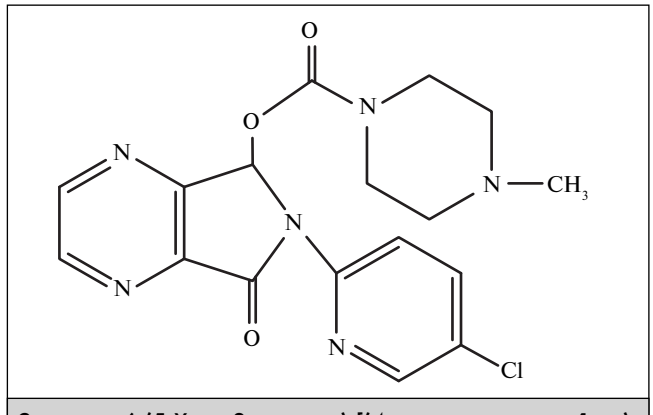
Ключевые слова: *зопиклон, ткань печени, экстрагирование, сохраняемость.*

Зопиклон – снотворное лекарственное средство третьего поколения, применяется в медицинской практике для лечения инсомний. По химической структуре зопиклон является производным пирролопиразина. Препарат токсичный. Известны случаи смертельных и несмертельных интоксикаций зопиклоном [1–3]. Для установления факта отравления необходимо определение исследуемого вещества в биологических объектах, в том числе подвергшихся гнилостным изменениям. Установление срока сохранения токсических веществ в трупном материале и их определение имеет большое практическое значение. Однако в специальной литературе недостаточно данных о сохраняемости Z-препаратов, в том числе зопиклона. В работе Л. Ю. Клименко [4] показано, что зопиклон сохраняется в биологическом материале в течение 21 дня при изолировании его с помощью хлороформа. Использовав в качестве экстрагента нейтральный ацетон нами получены данные по сохраняемости золпидема и залеплона в трупной ткани печени [5]. Указанные вещества определяются по разработанной нами методике после их хранения при комнатной температуре через 3 мес. Зопиклон, в отличие от золпидема и залеплона, имеет особенности – он разрушается в щелочной среде. Поэтому представляло интерес выяснить, насколько стабилен зопиклон в биологическом материале при длительном хранении.

Цель настоящего исследования – изучение сохраняемости зопиклона в образцах трупной печени в процессе хранения их в разных условиях.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили образцы печени трупов людей, погибших от травм, хранившихся в течение 3 мес при температуре 5°С и 18–20°С. По 5,0 г измельченной ткани печени помещали в пенициллиновые флаконы вместимостью 20 мл, в 5 из которых добавляли по 1 мл спиртового раствора зопиклона, содержащего 300 мкг в 1 мл, в 6-й флакон помещали 1 мл спирта. Содержимое флаконов перемешивали в течение 10 мин, герметично закрывали и хранили в течение 3 мес при температуре 5°С и 18–20°С. Анализ проводили по следующей методике: в каждый флакон добавляли по 10,0 мл ацетона, экстрагировали в течение 10 мин, центрифугировали 5 мин при скорости 3000 об/мин. Экстракты отделяли и процедуру экстрагирования повторяли ещё раз с использованием 5,0 мл ацетона. Ацетоновые экстракты объединяли, процеживали через небольшие ватные тампоны в сухие пенициллиновые флаконы и выпаривали при температуре 40°С на водяной бане под слабым током воздуха до полного удаления ацетона. Содержимое флаконов смешивали с 5,0 мл 0,1 н раствора кислоты хлористоводородной (pH_2), добавляли 5 мл *н*-гексана и экстрагировали в течение 5 мин. Экстракцию *н*-гексаном проводили 2 раза. Органическую фазу отделяли центрифугированием



Зопиклон 6-(5-Хлор-2-пиридил)-[(4-метилпи-перазин-1-ил)-карбонилокси]-5,6-дегидро-пирроло[3,4-b]пиразин-5-он

и не исследовали, а водную – подщелачивали 25% раствором гидроксида аммония до pH_9 и экстрагировали 5 мл хлороформа в течение 5 мин. Хлороформные экстракты отделяли и экстракцию хлороформом повторяли еще 1 раз. Объединенные экстракты фильтровали через сухой бумажный фильтр в присутствии безводного сульфата натрия и выпаривали досуха при температуре 40°С под слабым током воздуха. Сухие остатки с помощью нескольких капель хлороформа количественно наносили на стартовую линию пластины «Sorbfil» 10×15 см с флюоресцирующей добавкой в виде полосы, с одной стороны которой наносили смесь метчиков, с другой – в виде точки стандартный раствор зопиклона. Хроматографирование проводили в ацетоне без предварительного насыщения камеры парами растворителя [6].

На хроматограммах (рис. 1) в УФ-свете (λ 254 нм) наблюдали полосы темно-сиреневого цвета в III хроматографической группе с индексом удерживания 3,04 на уровне пятен зопиклона [7]. Зоны, выделенные на уровне стандарта, переносили в пенициллиновые флаконы. Во флаконы добавляли 5,0 мл этилового спирта, встряхивали и центрифугировали при скорости 3000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочные жидкости фильтровали через сухие бумажные фильтры, которые промывали небольшим количеством этилового спирта, доводя объемы фильтрата до 5 мл.

Измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре и сравнивали ее с растворами холостых проб при 305 нм (максимум поглощения спиртового раствора зопиклона). На рис. 2, 3 приведены спектры абсорбции зопиклона, выделенного из образцов печени, хранившихся в течение 3 мес при температуре 5°С и 18–20°С. Спек-

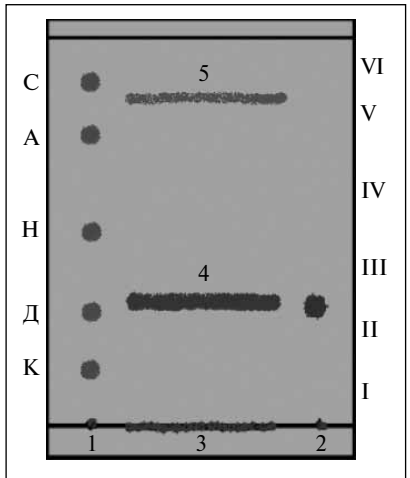


Рис. 1. Хроматограмма при детектировании в УФ-свете при длине волны 254 нм: 1 – смесь метчиков (кодеин, дикаин, новокаин, амидопирин, сибазон); 2 – стандарт; 3 – анализируемый экстракт; 4 – обнаруженная полоса исследуемого вещества; 5 – полоса соэкстрактивных веществ; I–VI – хроматографические группы

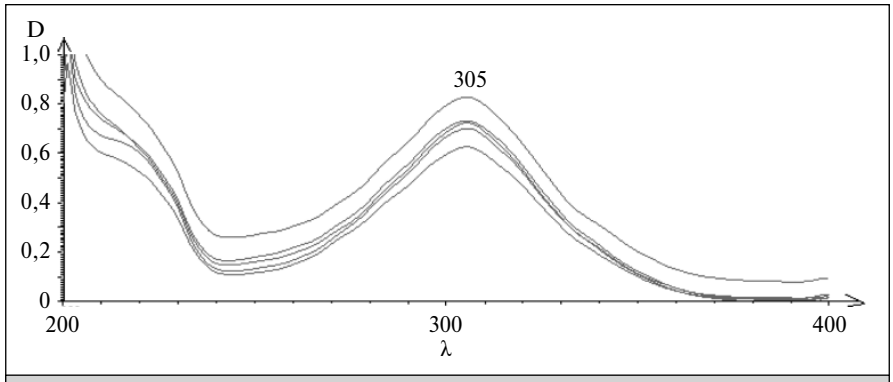


Рис. 2. Спектры абсорбции зопиклона, выделенного из ткани печени, хранившиеся в течение 3 мес при t = 5°С

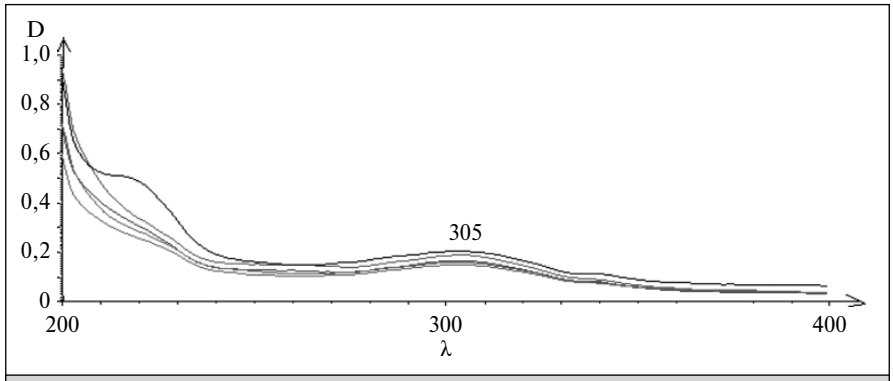


Рис. 3. Спектры абсорбции зопиклона, выделенного из ткани печени, хранившиеся в течение 3 мес при t = 18–20°С

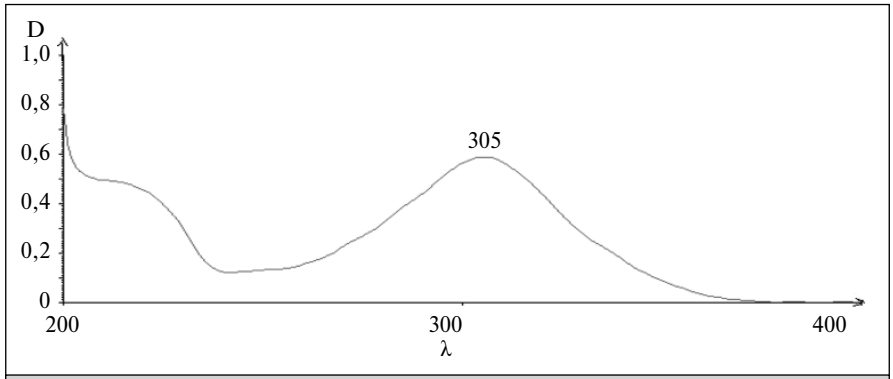


Рис. 4. Спектр абсорбции стандартного раствора зопиклона

тры поглощения анализируемого вещества, выделенного из гнилостно измененных образцов печени, полностью совпадали со спектром нативного вещества (рис. 4).

Количественное определение зопиклона осуществляли по стандарту, используя величины оптических плотностей исследуемых растворов и стандартного раствора зопиклона, оптическая плотность которого при содержании 15 мкг/мл равна 0,588. Результаты количественного определения исследуемого вещества представлены в таблице.

ВЫХОД ЗОПИКЛОНА ПРИ ЭКСТРАГИРОВАНИИ ИЗ ТКАНИ ПЕЧЕНИ (n=5; p=95%)

№	Зопиклон			
	t≈5°C		t≈18–20°C	
	значение D	выход, %	значение D	выход, %
1	0,828	35,20	0,144	6,10
2	0,701	29,80	0,183	7,80
3	0,724	30,80	0,158	6,70
4	0,732	31,10	0,199	8,45
5	0,626	26,60	0,153	6,50
$\overline{X}\pm\Delta\overline{x}$	**0,722±0,069**	**30,70±2,94**	**0,167±0,022**	**7,11±0,93**

Вывод

Зопиклон – достаточно устойчивое соединение, при контакте с трупной тканью печени сохраняется в течение 3 мес при температуре 5°С и 18–20°С. Зопиклон может быть изолирован, идентифицирован и количественно определен по предлагаемой методике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boniface P.J. Russel S.G.G. Two Cases of Fatal Zopiclone Overdose. J. Analyt. Toxicol. 1996; 20: 131–133.

2. Jonas A.W., Holgrem A. Concentrations of zolpidem and zopiclone in venous blood samples from impaired drivers compared with femoral blood forensic autopsies. Forensic Sci Intern. 2012; 222 (1–3): 118–123.

3. Khodasevich L. Acute poisoning by new psychotropic substance Zopiclone. (Электронный ресурс). Режим доступа: http://www.medline.ru/monograf /sudmed/a2/5tsast-1.shtml/(дата обращения: 24.06.2014).

4. Клименко Л.Ю. Хіміко-токсикологічне дослідження зопіклону. Автореф. дис. … канд. фарм. наук. Украина, Киев, 2007. 26 с.

5. Чепурная Г.П., Карташов В.А., Чернова Л.В. Изучение сохраняемости золпидема и залеплона в ткани печени. Судеб.-мед. экспертиза. 2015; 5: 45–51.

6. Карташов В.А., Чернова Л.В. Химико-токсикологический анализ. Ч. 1: Выделение токсических веществ из биологических объектов. Майкоп: Качество, 2008, 188.

7. Чепурная Г.П., Карташов В.А., Чернова Л.В. Исследование зопиклона, золпидема и залеплона методами ТСХ и ВЭЖХ. Актуальные проблемы медицины XXI века. Уфа, 2014; 66–70.

Поступила 11 сентября 2015 г.

PERSISTENCE OF ZOPICLONE IN LIVER TISSUE

G.P. Chepurnaya

Maikop State Technological University; 191, Pervomayskaya St., Maikop 38500

SUMMARY

The authors investigated whether the hypnotic drug zopiclone persisted in cadaveric liver tissue when its samples were stored in different conditions. During the investigation, they employed a procedure involving a method for the extraction of substances from the biological material with acetone; primary purification through liquid extraction; additional purification and pre-identification via a TLC screening; and qualitative and quantitative UV-spectrophotometric analysis. Zopiclone as a rather stable on contact with cadaveric liver tissue persist at 5°C and 18–20°C for 3 months and may be isolated, identified, and quantified.

Key words: zopiclone, liver tissue, extraction, persistence.

REFERENCES

1. Boniface P.J. Russel S.G.G. Two Cases of Fatal Zopiclone Overdose. J. Analyt. Toxicol. 1996; 20: 131–133.

2. Jonas A.W., Holgrem A. Concentrations of zolpidem and zopiclone in venous blood samples from impaired drivers compared with femoral blood forensic autopsies. Forensic Sci Intern. 2012; 222 (1-3): 118–123.

3. Khodasevich L. Acute poisoning by new psychotropic substance Zopiclone. (Электронный ресурс). Режим доступа: http://www.medline.ru/monograf /sudmed/a2/5tsast-1.shtml/(дата обращения: 24.06.2014).

4. Klimenko L.Yu. Chemical-toksikologic research of zopiclone. Diss. ... Cand.of Pharmaceutical Sciences. Ukraine, Kiev, 2007: 26 (in Ukrainian).

5. Chepurnaya G.P. Kartashov V.A., Chernova L.V. Resaerch of zolpidem and zaleplon persistence in the liver tissue. Medical expertise. 2015; 5: 34–37 (in Russian).

6. Kartashov V.A., Chernova L.V. Chemical and toxicological analysis. Part 1: Isolation of toxical substances out of the biological subjects. Maikop: Kachestvo, 2008: 188 (in Russian).

7. Chepurnaya G.P., Kartashov V.A., Chernova L.V. Research of zopiclone, zolpidem and zaleplon by TLC and HPLC methods. Actual problems of medicine in the XXI-st century. Ufa, 2014: 66–70 (in Russian).